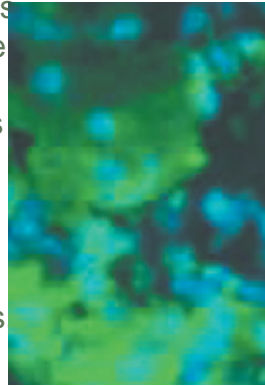


Les microARN circulants, une nouvelle classe de biomarqueurs pour la médecine

Sylvain Baulande, Audrey Criqui, Mathilde Duthieu

>À l'ère de la médecine personnalisée, la recherche de nouveaux marqueurs capables d'améliorer le diagnostic des patients devient primordiale. La notion de test diagnostique « compagnon », capable de guider les médecins et d'orienter les choix thérapeutiques, commence à voir le jour sous le concept de théranostic. Depuis leur découverte et l'observation d'étroites corrélations avec un contexte pathologique, les microARN (miARN) contenus dans les fluides biologiques représentent de nouvelles pistes prometteuses pour la mise au point de biomarqueurs. D'abord étudiés dans les cancers leur champ d'application est immense et touche tous les aspects de la médecine. Cet article passe en revue les récentes avancées sur les miARN circulants, leur origine, leur fonction, mais aussi leur potentiel d'application en clinique.



PartnerChip CEA, Gépole Campus 2, bâtiment G2, 2, rue Gaston Crémieux, 91000 Évry, France. sylvain.baulande@cea.fr

des miARN (miARN) chez l'homme en 2000 et leur détection de la circulation en 2008, la caractérisation des miARN circulants est en plein essor (Figure 1, 2). Nombreuses études récentes suggèrent un fort potentiel prédictif à ces molécules qui pourraient bien constituer une nouvelle catégorie de biomarqueurs très utile en clinique.

Les miARN, régulateurs post-transcriptionnels de l'expression des gènes

La recherche de biomarqueurs fiables, sensibles et peu invasifs est un enjeu de premier ordre pour la médecine moderne. En effet, ces biomarqueurs ont le potentiel de révolutionner la prise en charge médicale en permettant le dépistage et le diagnostic, mais aussi en permettant tant de mieux appréhender la réponse des patients à un traitement donné. Les besoins en biomarqueurs pertinents sont très pressants, notamment en oncologie où un dépistage précoce est souvent associé à un meilleur pronostic pour les patients. Chaque domaine de la médecine est concerné, des maladies cardiovasculaires aux maladies auto-immunes en passant par les maladies neurodégénératives de plus en plus fréquentes dans nos populations. En plus de sa fonction biologique, un biomarqueur se doit d'être facilement accessible et dosable, c'est pour cela que les fluides corporels (sérum, urine, etc.) représentent un bon choix pour ce type d'investigations. Depuis plusieurs décennies, l'existence d'acides nucléiques libres dans la circulation a été décrite et envisagée comme outil diagnostique, mais depuis la découverte de la traduction ou la dégradation (Figure 1, 2) de ces petits ARN intracellulaires longs de 22 nucléotides sont capables d'extinction (silencing) de l'expression de gènes par des mécanismes de régulations post-transcriptionnelles, en se fixant de manière libre aux parties 3' non traduites (3'UTR) des ARNm et en provoquant une répression de la traduction ou la dégradation (Figure 1, 2). Ce mécanisme n'est cependant pas exclusif ; la fixation de miARN aux régions 5'UTR est aussi possible et induit alors, soit une répression de la traduction [9]. Chez l'homme, 2500 miARN matures sont répertoriés dans la dernière version de la miRBase (version 20, <http://www.mirbase.org/>) [10], et plus de 60 % des gènes



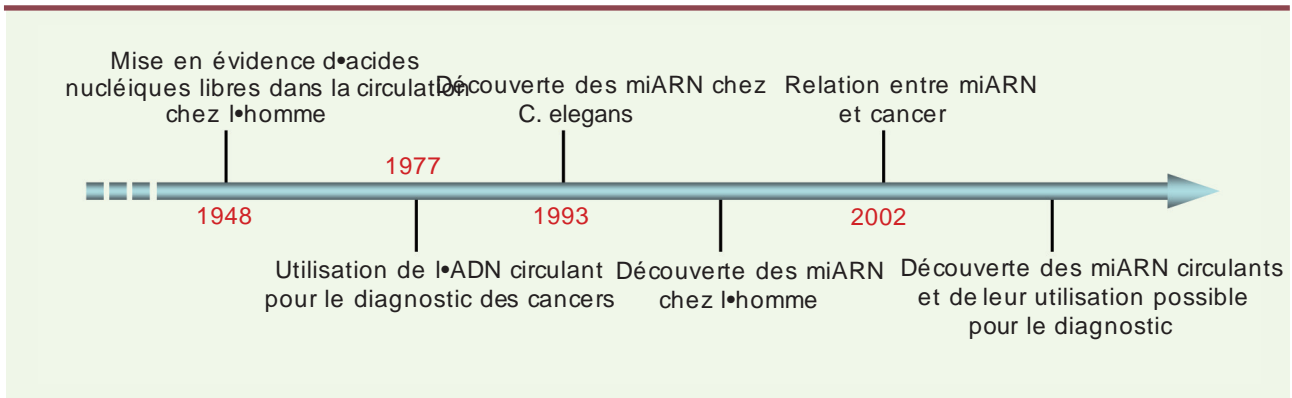


Figure 1. Dates clés des découvertes ayant permis la mise en évidence du pouvoir prédictif des miARN circulants en médecine.

sont susceptibles d'être régulés par les miARN. Le mécanisme fondamental de contrôle de l'expression des gènes est l'objet de recherches importantes dans un contexte pathologique où des dérégulations de l'expression de ces miARN sont fréquemment observées.

Sécrétion dans le milieu extracellulaire

La présence de miARN dans le milieu extracellulaire a été mise en évidence en 2008 par [Catalià \[2\]](#). Cette découverte a fait polémique un temps, car beaucoup pensaient que ces miARN circulants étaient libérés lors de la mort cellulaire. On sait à présent que les cellules sont capables d'une sécrétion complexe et finement régulée de miARN.

Les miARN circulants sont principalement retrouvés sous quatre types de structures différentes associées ou non à des complexes lipidiques (Figure 3). Les exosomes (40-100 nm) tout d'abord, sont des vésicules lipidiques formées à partir d'un processus d'invagination de la membrane plasmique donnant naissance à des endosomes qui se rechargent alors en vésicules ; celles-ci seront finalement libérées dans le milieu extracellulaire par fusion avec la membrane plasmique. Le contenu de ces vésicules exosomales, étroitement contrôlé par la cellule, pose de divers types de molécules, comme des ARN messagers et des protéines, mais aussi des miARN.

D'autres microvésicules, plus grandes que les exosomes et issues du bourgeonnement de la membrane plasmique, sont impliquées dans le transport extracellulaire des miARN. La composition de ces microvésicules en miARN est très similaire à celle de la cellule mère et ne semble pas être sujet à des mécanismes de sélection, comme c'est le cas pour les exosomes. De nombreuses microvésicules sont sécrétées dans le milieu extracellulaire en association avec des vésicules, comme miR-150 produit par les [corytes \[10\]](#) et miR-143 et miR-145 produits par des cellules en [culture \[14\]](#). La caractérisation du contenu de ces microvésicules fait l'objet de nombreuses études dont les résultats ont été mis à jour dans la base de données ExoCarta (<http://www.exocarta.org/>).

Les miARN peuvent aussi être véhiculés par l'intermédiaire de cellules apoptotiques (0,5-2 µm) qui se forment lors des stades précoces de l'apoptose. Les cellules endothéliales, par exemple, sont susceptibles d'être régulés par les miARN. Le mécanisme fondamental de contrôle de l'expression des gènes est l'objet de recherches importantes dans un contexte pathologique où des dérégulations de l'expression de ces miARN sont fréquemment observées.

Enfin, les lipoprotéines (HDL et LDL) sont elles aussi capables de transporter des miARN, les plus abondants dans les HDL étant miR-135a-1, miR-188 et miR-375.

La présence de miARN dans le milieu extracellulaire a été mise en évidence en 2008 par [Catalià \[2\]](#). Cette découverte a fait polémique un temps, car beaucoup pensaient que ces miARN circulants étaient libérés lors de la mort cellulaire. On sait à présent que les cellules sont capables d'une sécrétion complexe et finement régulée de miARN.

Les miARN circulants sont principalement retrouvés sous quatre types de structures différentes associées ou non à des complexes lipidiques (Figure 3). Les exosomes (40-100 nm) tout d'abord, sont des vésicules lipidiques formées à partir d'un processus d'invagination de la membrane plasmique donnant naissance à des endosomes qui se rechargent alors en vésicules ; celles-ci seront finalement libérées dans le milieu extracellulaire par fusion avec la membrane plasmique. Le contenu de ces vésicules exosomales, étroitement contrôlé par la cellule, pose de divers types de molécules, comme des ARN messagers et des protéines, mais aussi des miARN.

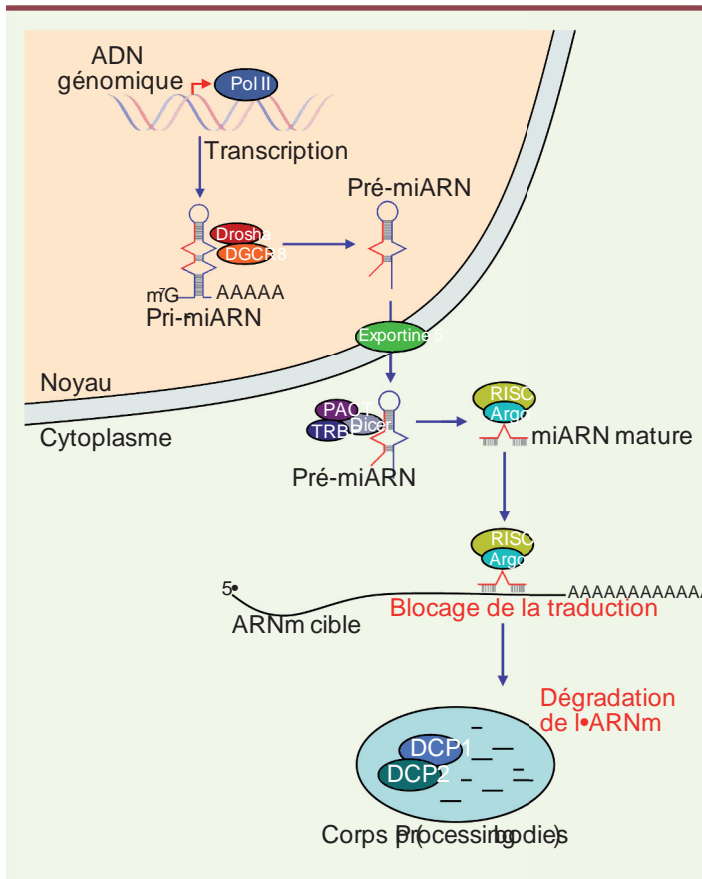


Figure 2. Régulation post-transcriptionnelle de l'expression des gènes par les miARN. Les gènes codant pour les miARN sont transcrits par l'ARN polymérase II (Pol II) en molécules de 60 à 100 nucléotides de long dotées d'une structure secondaire en tige/boucle appelées miARN primaires (pri-miARN). Dans le noyau, ces pri-miARN sont clivés par le complexe Drosha-DGCR8 (syndrome critical region) en pré-miARN, puis exportés vers le cytoplasme par l'intermédiaire de l'exportine 5. Une fois sortis du noyau, les pré-miARN sont à nouveau clivés par le complexe DICER de manière à former les miARN matures (environ 22 nucléotides) pris en charge par des protéines des argonautes (Ago, de 1 à 4 chez l'homme) et intégrés au sein d'un complexe protéique appelé le RISC (RNA-induced silencing complex). Ce complexe peut se fixer spécifiquement à certaines séquences situées dans les parties 3' non traduites d'ARNm (3'UTR). La séquence en position 2-7 des miARN (seed) est responsable de l'adressage du complexe à la séquence cible. Si une homologie parfaite est responsable du clivage de l'ARNm, l'homologie majoritaire chez l'homme, conduit quant à elle à un blocage de la traduction suivi d'une dégradation des ARNm au sein de corps contenant notamment le complexe enzymatique de DCP1 et DCP2 responsable de la dégradation de la coiffe 5' m⁷G cap binding protein

dans cette production, ce d'autant plus qu'elles expriment un grand nombre des miARN observés dans la circulation. Cependant, la présence de miARN spécifiques de certains tissus, comme le foie (miR-122) humain en agissant comme un agoniste des muscles (miR-133a) ou le cerveau (miR-124), plaide en faveur d'une origine diverse et complexe de ces molécules [22].

Des régulateurs paracrines

À ce jour, aucun effet fonctionnel n'a pu être mis en évidence pour les miARN complexés aux protéines argonaute, qui pourtant représentent la structure la plus abondante dans la circulation. Concernant les miARN associés à des structures lipidiques, leur captation par des cellules réceptrices est possible par des mécanismes d'endocytose, de fusion ou de phagocytose ; cependant, leur faible concentration dans la circulation générale rend peu vraisemblable un quelconque effet physiologique des miARN dans ces cellules [10]. Récemment, plusieurs travaux mettent en lumière les effets paracrines de miARN sécrétés dans des exosomes et qui, après leur recapture par des cellules hôtes présentes dans le micro-environnement, vont y inhiber l'expression de gènes [11, 83]. Ainsi, l'induction de miR-143 et miR-145 par les cellules endothéliales en réponse aux contraintes de cisaillement (stress) est suivie d'une sécrétion de ces miR dans les exosomes puis de leur captation par les cellules musculaires lisses dans lesquelles ils vont bloquer l'expression d'ARNm cibles [14, 24]. Ce phénomène a même une importance fonctionnelle majeure, puisque les auteurs ont aussi démontré que ce mécanisme de communication extracellulaire, impliquant ces deux miARN, est capable de limiter le développement de plaques d'athérome chez des souris ApoE^{-/-} [14, 24]. Ce type de régulation est aussi mis à contribution lors du développement tumoral. Dans le cadre de certaines cellules tumorales régulatrices, exosomes, l'expression des gènes de cellules avoisinantes peut induire un micro-environnement favorable à leur prolifération et à leur invasion. Une étude comparative de la composition en miARN de vésicules produites par des cellules de carcinomes hépatocellulaires a montré qu'elle était très différente de celle des cellules d'origine. Certains miARN comme miR-584, miR-517c ou bien miR-378, sont très fortement représentés dans ces exosomes, alors que leur expression cellulaire est à peine détectable [25]. Après la captation de ces vésicules par les cellules voisines, les miARN exogènes agissent sur les messagers cellulaires et bloquent l'expression de gènes de la voie Transforming growth factor β activated kinase-1 connue pour être inactivée lors de la carcinogenèse hépatocellulaire [85]. De plus, certains miARN produits par des cellules cancéreuses régulent directement des récepteurs au profit de la croissance tumorale. C'est le cas de miR-21 et miR-29a, capables d'agir directement au récepteur Toll-like (miR-102) humain en agissant comme un agoniste paracrine induisant une réponse inflammatoire, pro-invasive et métastatique, des cellules immunitaires [26].

Nature du fluide	Liquide amniotique	Lait maternel	Lavage bronchique	Liquide céphalo-rachidien	Colostrium	Liquide péritonéal	Plasma	Liquide pleural	Salive	Liquide séminal	Larmes	Urine
Concentration (µg/l)	570	47 240	1 128	111	585	775	308	470	1 945	17 770	564	94
Nombre de miARN détectés *	359	429	260	212	386	397	349	210	548	436	320	204
Les 10 miARN les plus abondants	miR-518e miR-335 miR-302cb miR-515-3p miR-452b miR-892a	miR-335 miR-26a-2 miR-181d	miR-515-3p miR-335 miR-509-5p	miR-335 miR-515-3p miR-892a	miR-509-5p miR-181d miR-335	miR-518e miR-518e miR-515-5p miR-223	miR-515-3p miR-892a miR-518e miR-134 miR-509-5p miR-223	miR-335 miR-325 miR-377 miR-586b miR-518e let-7i miR-539	miR-515-3p miR-892a miR-223 miR-515-3p miR-616 miR-873 miR-335 miR-302d miR-509-5p	miR-518e miR-892a miR-588b miR-137 miR-518e miR-545 miR-27ab miR-518e miR-197b miR-892a miR-218 miR-492b miR-515-5p miR-302d	miR-335 miR-518e miR-590-3p miR-515-3p miR-873 miR-873 miR-590-5p miR-873 miR-892a miR-335 miR-335 miR-335 miR-335 miR-335 miR-335	miR-335 miR-518e miR-515-3p miR-590-3p miR-873 miR-873 miR-590-5p miR-873 miR-302d miR-590-5p miR-335 miR-335 miR-637
miARN spécifiques du type de fluide	miR-636 miR-92a-1 miR-376b miR-26b miR-556-5p miR-593	miR-193b miR-10a miR-28-5p miR-924 miR-150 miR-518c miR-217	miR-18a miR-513a-5p miR-10b miR-192 miR-193b miR-130a	miR-577 miR-18a miR-513a-5p miR-10b miR-192 miR-193b miR-130a	miR-18a miR-513a-5p miR-10b miR-192 miR-193b miR-130a	miR-129 miR-583 miR-223 miR-627 miR-29b-1 miR-182	miR-224 miR-483-3p miR-518f miR-508-3p miR-551b miR-182 miR-135a miR-139-3p miR-801 miR-369-3p miR-519d miR-299-5p miR-373 miR-330-5p	miR-224 miR-483-3p miR-518f miR-508-3p miR-551b miR-182 miR-135a miR-139-3p miR-801 miR-369-3p miR-519d miR-299-5p miR-373 miR-330-5p	miR-182 miR-450b-5p miR-622 miR-141 miR-26a miR-145 miR-135b miR-381 miR-96 miR-1228 miR-431	miR-182 miR-508-5p miR-17 miR-380 miR-29b-2 miR-340	miR-508-5p miR-637	

Tableau 1. Caractérisation des miARN présents dans 12 fluides biologiques. Dans chacun des fluides testés, la quantité des miARN a été estimée, ainsi que le contenu en miARN. Les miARN les plus fréquemment retrouvés sont indiqués, ainsi que ceux qui sont spécifiquement retrouvés dans un seul fluide biologique. La liste est faite à partir d'un panel partiel contenant 714 miARN (d'après).

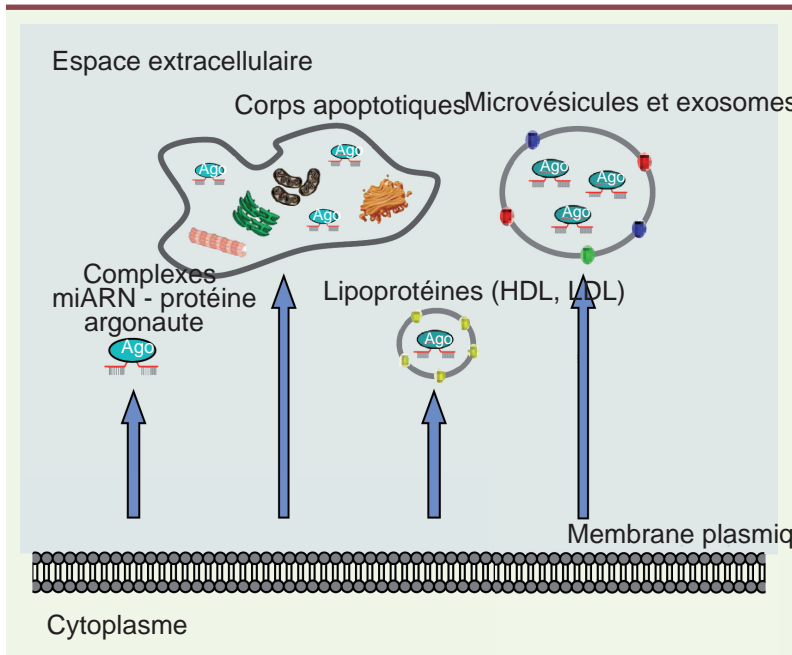


Figure 3. Exports des miARN dans le milieu extracellulaire. Les miARN présents dans l'espace extracellulaire sont produits par les cellules sous quatre formes principales. Tout d'abord, sous une forme non lipidique où les miARN sont juste complexés aux protéines argonaute qui les protègent de la dégradation. C'est la forme majoritaire que l'on retrouve dans le milieu extracellulaire. Dans les autres types d'export, les miARN sont associés à des structures lipidiques. Les corps apoptotiques qui résultent de la mort cellulaire par apoptose enferment dans ces structures des miARN cytoplasmiques qui se retrouvent ainsi dans la circulation. Les vésicules de sécrétion, ainsi que les exosomes produits par les cellules, sont aussi des mécanismes importants permettant la libération des miARN. Enfin, la présence de miARN associés aux lipoprotéines de type HDL a aussi été décrite et représente une autre voie d'export des miARN cellulaires.

miARN circulants et pathologie humaine

L'apparition d'un contexte pathologique est souvent associée à une perturbation importante de l'expression des miARN cellulaires dans les tissus concernés. La recherche de modifications quantitatives de certains miARN dans la circulation lors de ces situations pathologiques constitue donc un axe de recherche prometteur. La première démonstration d'un lien entre un miARN circulant et un cancer date de 2008. Une étude du sérum de 60 patients atteints de lymphomes diffusifs à grandes cellules B (DLBCL) avait rapporté une augmentation significative des miARN miR-155, miR-21 et miR-210 par comparaison à un groupe de contrôle [27]. Depuis, plusieurs centaines de publications ont étudié ces modifications quantitatives de certains miARN présents dans les fluides biologiques (principalement le sérum) de patients atteints de divers cancers. Ces observations ne se limitent pas aux cancers car de nombreuses pathologies sont associées à des modifications quantitatives. Elles peuvent être consécutives à un relargage passif de cellules mortes ou à une lyse tissulaire provoquée par la maladie, comme par exemple dans le cas d'un infarctus du myocarde. Les miARN miR-208, miR-499 et miR-133, dont l'expression est restreinte au tissu musculaire, sont ainsi libérés dans la circulation suivant le degré d'atteinte du muscle cardiaque [28]. De la même manière, la concentration sérique de miR-122 augmente proportionnellement à la sévérité d'une hépatite C chronique, mais aussi dans le cas d'une stéatose hépatique non alcoolique (NASH) [29]. Ces deux exemples illustrent l'intérêt du suivi du taux de ces miARN spécifiques pour apprécier une atteinte tissulaire. Dans ce type de situation, la détection de certains miARN dans le sérum n'est donc qu'une conséquence directe de la pathologie, alors que dans d'autres cas, les miARN peuvent

avoir un rôle pathogénique et participer à l'évolution de la maladie. Dans le diabète de type 2 par exemple, une modification de l'expression de miR-26a, miR-223 et miR-15a, est détectée avant même le développement de la maladie, ce qui suggère fortement une implication directe de ces miARN dans la mise en place de la physiopathologie diabétique [30, 31].

La nouvelle classe de biomarqueurs

L'association étroite entre contextes pathologiques et présence de certains miARN dans la circulation fait de ces derniers d'excellents candidats biomarqueurs pour la détection précoce de telles associations. L'application de ce principe au dépistage précoce des cancers est primordial et permettrait de permettre une prise en charge rapide et optimisée des patients. La prise en charge précoce du cancer du poumon par exemple, qui est le cancer le plus meurtrier, pourrait être améliorée si des biomarqueurs pertinents étaient identifiés à disposition des médecins. La société Rosetta Inpharmatics propose déjà des tests diagnostiques basés sur la mesure de l'expression de huit miARN dans le sérum pour différencier les quatre principales classes de cancer du poumon à partir d'une biopsie avec une précision de 94,3%. Pour les miARN circulants, un outil diagnostique précoce non invasif de choix, des travaux récents ont identifié un panel de dix miARN capable de prédire le développement d'un cancer du poumon de type

miARN	Expression	Organisme	Maladie/condition biologique	Plasma/Sérum
Cancer				
miR-16, 92a, 103, 107, 197, 34b, 328, 485-3p, 486-5p, 92b, 574-3p, 636, 640, 766, 885-5p, 141, 375	Augmentation	Homme	Cancer de la prostate	Plasma/sérum
miR-155, 210, 21	Augmentation	Homme	Lymphome diffus à grandes cellules B (DLBCL)	Sérum
miR-92a, 638	Diminution	Homme	Leucémie aiguë myéloïde (AML)	Plasma
miR-21, 210, 155, 196a, 200a, 200b	Augmentation	Homme	Cancer du pancréas	Plasma/sérum
miR-195, let-7a, 155, 10b, 34a, 21	Augmentation	Homme	Cancer du sein	Plasma/sérum
miR-21, 92, 93	Augmentation	Homme	Cancer de l'ovaire	Sérum
miR-29a, 92	Augmentation	Homme	Cancer colorectal	Plasma
miR-1, 20a, 27a, 34, 423-5p, 17-5p, 21, 106a, 106b, let-7a	Augmentation/ diminution	Homme	Cancer gastrique	Plasma/sérum
miR-184	Augmentation	Homme	Carcinome à cellules squameuses (SCC)	Plasma
miR-24, 31	Augmentation	Homme	Carcinome buccal à cellules squameuses (OSCC)	Plasma
miR-21, 375, 10a, 22, 100, 148b, 223, 133a, 127-3p	Augmentation/ diminution	Homme	Cancer de l'œsophage (ESCC)	Plasma/sérum
miR-486, 30d, 499, 1, 21, 141, 200c, 1254, 574-5p	Augmentation/ diminution	Homme	Non-small cell lung cancer (NSCLC)	Plasma/sérum
miR-221	Augmentation	Homme	Mélanome	Sérum
Atteinte cardiaque				
miR-208a	Augmentation	Homme/rat	Lésion du myocarde	Plasma
miR-1, 133a, 133b, 499-5p	Augmentation Homme/ souris/rat	Homme/ souris/rat	Infarctus du myocarde (AMI)	Plasma/sérum
miR-122, 375	Diminution	Homme	Infarctus du myocarde avec surélévation du segment ST (STEMI)	Plasma
miR-423-5p	Augmentation	Homme	Infarctus du myocarde	Plasma
Foie/atteinte tissulaire				
miR-122, 192	Augmentation	Souris	Lésions hépatiques toxiques médicamenteuses	Sérum
miR-122, 133a, 124	Augmentation	Rat	Atteinte tissulaire	Plasma
Infection				
miR-150, 146a, 223	Diminution	Homme	Sepsis	Plasma/sérum
Grossesse				
miR-520d-5p, 526a, 527	Augmentation	Homme	Grossesse	Sérum
Maladie psychiatrique				
miR-134	Diminution	Homme	Trouble bipolaire	Plasma

Tableau II. Liste non exhaustive de miARN circulants associés à diverses pathologies ou conditions biologiques.

Méthodologie pour le dosage des miARN circulants

L'intérêt majeur de l'utilisation des miARN circulants comme biomarqueurs réside tout d'abord dans leur pertinence biologique, leur capacité à être quantifiés de manière fiable ainsi que leur présence dans des fluides biologiques accessibles (majoritairement le sang). Cependant, plusieurs considérations techniques doivent être prises en compte, car la reproductibilité des tests dépend d'une homogénéisation de la pratique qui n'est pas forcément présente dans la littérature. Tout d'abord, la préparation des échantillons nécessite deux centrifugations successives : la première à faible vitesse (1200 g) se débarrasse des cellules et la suivante à une vitesse plus élevée (14 000 g) permettant d'éliminer les débris cellulaires. Cette dernière étape a une importance majeure car elle peut grandement interférer avec la détection de miARN. Ensuite, l'extraction des ARN doit être réalisée dans des conditions adaptées à la collecte de ces petits ARN, et doit tenir compte de la quantité de miARN attendue. En effet, pour optimiser le rendement, l'ajout d'un agent lyophilisant peut être requis ; de plus, il permet de limiter la perte de certaines populations de miARN, notamment ceux dont le contenu est souvent perdu lors des extractions) est faible. Le choix de la méthode elle aussi son importance. Il existe actuellement trois principales méthodes de dosage : la RT-PCR (reverse-transcriptase polymerase chain reaction) quantitative, le microarray et le séquençage haut-débit (NGS pour next generation sequencing). Les deux dernières permettent une caractérisation globale des miARN et sont le plus souvent appliquées dans un but de recherche. Pour une approche ciblée analysant un nombre de miARN restreint, la RT-PCR s'avère plus adaptée car plus rapide et facilement transférable en clinique. La question des gènes de référence à utiliser pour normaliser les résultats est aussi un point important qui nécessite d'être défini au mieux pour chaque application. Le dosage de miARN reste donc tout à fait possible pour une application de routine dès l'établissement de procédures techniques standardisées.

non-small cell lung cancer (NSCLC) chez plus de six patients supérieurs à partir d'une étude rétrospective, et cela 33 mois avant que le diagnostic officiel ne soit établi [36]. Les cancers du sein représentent 30 % des cancers chez la femme et ont un besoin important de biomarqueurs pour le diagnostic précoce et le dépistage utilise actuellement la mammographie, qui reste complexe et difficile à systématiser. De plus, les marqueurs sanguins actuellement utilisés (le carcino-embryon antigen [CEA] et le cancer antigen-15-3 [CA15-3]) manquent encore cruellement de précision. Une alternative nouvelle serait de doser le miR-195 dans le sang pour une augmentation est précoce et survient chez les patientes atteintes de tumeurs de moins de deux cm de diamètre. De plus, le niveau de miR-195 dans le sang semble corrélé à la taille de la tumeur et retombe à un niveau basal deux semaines après résection de la tumeur, indiquant le potentiel important de ce miR pour le suivi des patientes [34]. Dans le cancer colorectal (CRC) également, les marqueurs disponibles en clinique (CEA et CA19-9) restent insuffisants pour permettre un diagnostic précoce et fiable. Des résultats récents indiquent que le taux de miR-92 augmente très précocement dans le plasma des patients atteints d'un cancer colorectal, dès le stade 1 de la tumeur.

seul ou en association avec d'autres miARN, comme miR-29a par exemple, pourrait venir compléter les tests sanguins actuels et améliorer la fiabilité du diagnostic. Une telle démarche s'applique aussi au cancer du pancréas [39] dont la survie reste extrêmement faible à cinq ans, particulièrement si le diagnostic est tardif. Une récente étude a mis en évidence une signature basée sur la combinaison de deux miARN (miR-16 et miR-196a) et du marqueur CA19-9, qui permet d'identifier avec une grande fiabilité la présence de tumeurs, y compris à des stades précoces [38, 39].

Cependant, les applications potentielles des miR circulants dépassent de loin le cadre de l'oncologie et touchent toutes les maladies humaines. Les maladies cardiovasculaires, elles aussi, pourraient tirer avantage de tests diagnostiques basés sur les miARN circulants. Ces derniers ont aussi leur place dans la détection des rejets de greffes, notamment dans le cas de greffes rénales. En effet, le taux de miR-204 dans les urines est diminué d'un facteur 30 chez les patients atteints de fibrose interstitielle et d'atrophie tubulaire du greffon rénal qui peuvent mener au rejet. De la même manière, le taux urinaire de miR-142-3p augmente parallèlement au rejet de la greffe, et ce avec une très bonne précision [37].

Conclusion

Grâce à leur stabilité et leur accessibilité, les miARN circulants représentent une nouvelle famille de biomarqueurs à très fort potentiel. Leur utilisation dépasse largement le champ de l'oncologie et s'adresse à un très large spectre de pathologies. Les besoins en biomarqueurs pertinents et précis sont multiples, allant du diagnostic précoce à l'apparition des premiers symptômes au suivi des patients, à la caractérisation de leur hétérogénéité dans la maladie et au traitement, constituant le concept thérapeutique. La disponibilité de nombreuses plateformes de microarray capables de faire le typage presque exhaustif des 2578 miARN humains [10] nous ouvre aujourd'hui un horizon qui devrait accélérer encore la découverte de nouveaux biomarqueurs présents dans les fluides biologiques, ce qui formerait l'arsenal thérapeutique disponible pour les cliniciens. À l'ère de la médecine personnalisée et de la médecine préventive, les miARN circulants représentent un nouveau défi plein de promesses.

SUMMARY

Sanguinis miRNAs as a new class of biomedical biomarkers. The use of new biomarkers able to improve patient prognosis and diagnosis become a real challenge in the era of personalized medicine. Considering that early detection

of cancer greatly increases the chances for successful treatment, the identification of accurate biomarkers is essential. In addition, the possibility to optimize patients' care and follow-up using complementary diagnostic tests is emerging under the term of theranostics and should become a key step in future therapeutics. Since their discovery and their close associations with pathological conditions, miRNAs found in biological fluids represent a new promising class of potential biomarkers. First identified in cancer patients, possible applications are very broad and address the vast majority of human diseases. This review focuses on recent advances in our knowledge of circulating miRNA production in cells, export in extra-cellular environment and presumed physiological functions are addressed. The review also emphasizes their potential applications in clinics as biomarkers or therapeutic agents.

LIENS D'INTÉRÊT


Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Swarup V, Rajeswari MR. Circulating (cell-free) nucleic acids. A promising, non-invasive early detection of several human diseases. *FEBS Lett* 2007 ; 581 : 795-9.
2. Gilad S, Meiri E, Yogev S. Serum microRNAs are promising novel biomarkers. *Nat Rev Clin Oncol* 2008 ; 3 : 3148.
3. ENCODE project consortium. Identification and analysis of functional elements in 1% of the human genome by the ENCODE pilot project. *Nature* 2007 ; 447 : 799-816.
4. Mattick JS, Makunin IV. Non-coding RNA. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2006 ; 7 : 17-29.
5. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros P. The heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to *Cell* 1993 ; 75 : 843-54.
6. Wightman B, Ha I, Ruvkun G. Posttranscriptional regulation of the heterochronic gene lin-4 mediates temporal pattern formation. *Cell* 1993 ; 75 : 855-62.
7. Filipowicz W, Bhattacharyya SN, Sonenberg N. Mechanisms of post-transcriptional silencing by microRNAs: are the answers near? *Nat Rev Genet* 2008 ; 9 : 102-14.
8. Dunoyer P. La bataille du silence : mécanisme et implications des interactions plante/virus. *Med Sci (Paris)* 2009 ; 25 : 505-12.
9. Sacco L Da, Masotti A. Recent insights and novel bioinformatics tools to understand the role of microRNAs binding to 5' untranslated regions. *Mol Cell* 2012 ; 44 : 480-95.
10. Kozomara A, Griffiths-Jones S. miRBase: integrating microRNA annotation and deep sequencing data. *Nucleic Acids Res* 2011 ; 39 : D152-7.
11. Friedman RC, Farh KK-H, Burge CB. Mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. *Genome Res* 2009 ; 19 : 92-105.
12. Ventura A, Jacks T. MicroRNAs and cancer: short RNAs go long. *Cancer Cell* 2009 ; 16 : 586-91.
13. Zhang Y, Liu D, Chen B. Secreted monocytic miR-150 enhances targeted endothelial cell migration. *Mol Cell* 2010 ; 39 : 133-44.
14. Hergenreider E, Heydt S, Treger K. Interprotective communication between endothelial cells and smooth muscle cells through miRNAs. *Nat Rev Cardiol* 2012 ; 8 : 249-56.
15. Mathivanan S, Fahner CJ, Reid CE. Cart 2012: database of exosomal proteins, RNAs and lipids. *Nucleic Acids Res* 2012 ; 40 : D1241-4.
16. Zernecke A, Bidzhekov K, Bockelmann D. Delivery of microRNA-126 by apoptotic bodies induces CXCL12-dependent vascular protection. *Circ Res* 2009 ; 105 : 255-63.
17. Vickers KC, Palmisano BT, Shaul BE. miRNAs are transported in plasma and delivered to recipient cells by high-density lipoproteins. *Nat Cell Biol* 2011 ; 13 : 423-33.
18. Arroyo JD, Chevillet JR, Krohn AB. Exosome-associated miRNAs are transported in plasma and delivered to recipient cells by high-density lipoproteins. *Nat Cell Biol* 2011 ; 13 : 423-33.

19. Turchinovich A, Weiz L, Langheine C. Characterization of extracellular circulating microRNAs. *Nucleic Acids Res* 2011 ; 39 : 7223-33.
20. Russo F, Bella S Di, Nigam SK. miRanda: extracellular circulating microRNAs database. *BMC Syst Biol* 2012 ; 6 : e47786.
21. Weber JA, Baxter DH, Zhang S. MicroRNA spectrum in 12 body fluids. *Clin Chem* 2010 ; 56 : 1733-41.
22. Valic R, O'Connell M L, Garrett-Engle PL. Plasma microRNAs as sensitive and specific biomarkers of tissue injury. *Clin Chem* 2009 ; 55 : 1977-83.
23. Montecalvo A, Larregina AT, Shrivastava S. Mechanism of transfer of functional microRNAs between mouse dendritic cells. *Blood* 2012 ; 119 : 756-66.
24. Tréguer K, Heydt S, Hergenreider E. Protection des vaisseaux sanguins contre l'athérosclérose : le rôle des miARN sécrétés par les cellules endothéliales. *Med Sci (Paris)* 2012 ; 28 : 584-7.
25. Kogure T, Lin W-L, Yamakita K. Inter-cellular nanovesicle mediated microRNA transfer: a mechanism of environmental modulation of hepatocellular cancer cell growth. *Hepatology* 2011 ; 54 : 1237-48.
26. Fabbini M, Paone A, Calabrese C. MicroRNAs bind to Toll-like receptors to induce prometastatic inflammatory response. *Nat Cell Biol* 2012 ; 14 : 1075-82.
27. Lawrie CH, Gal S, Dunlop HM. Detection of elevated levels of tumour-associated microRNAs in serum of patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Br J Haematol* 2008 ; 141 : 672-5.
28. Guire V De, Robitaille R, Tétrault L. Circulating miRNAs as sensitive and specific biomarkers for the diagnosis and monitoring of human diseases: promises and challenges. *Biochem Biophys Res Commun* 2013 ; 46 : 846-60.
29. Corsten MF, Dennert R, Joehanssen W. Circulating microRNA-208b and miR-499 reflect myocardial damage in cardiovascular disease. *Circ Cardiovasc Genet* 2010 ; 3 : 499-506.
30. Cermelli S, Ruggieri A, Marchetti C. Circulating microRNAs in patients with chronic hepatitis C and non-alcoholic fatty liver disease. *PLoS One* 2012 ; 7 : e23937.
31. Zampetaki A, Kiechl S, Drobnik W. Plasma microRNA profiling reveals loss of endothelial MiR-126 and other microRNAs in type 2 diabetes. *PLoS One* 2010 ; 5 : 810-7.
32. Gilad S, Lithwick-Yanai G, Barshack O. Classification of the four main types of lung cancer using a microRNA-based diagnostic assay. *Mol Cell* 2012 ; 44 : 510-7.
33. Chen H, Lu Z, Wang LM. Identification of ten serum microRNAs from a genome-wide serum microRNA expression profile as novel noninvasive biomarkers for nonsmall cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2012 ; 18 : 1620-8.
34. Henschel HM, Miller N, Kerin MJ. Circulating microRNAs: promising breast cancer biomarkers. *Breast Cancer* 2011 ; 18 : 402.
35. Hsuang Z, Huang D, Niu S. Plasma microRNAs are promising novel biomarkers for early detection of colorectal cancer. *Cancer* 2010 ; 117 : 118-26.
36. Liu J, Gao J, Du J. Combination of plasma microRNAs with serum CA19-9 for early detection of pancreatic cancer. *Cancer* 2012 ; 121 : 683-91.
37. Scian M, Maluf D, D'Amico M. MicroRNA profiles in allograft tissues and paired urines associate with chronic graft dysfunction. *Am J Transplant* 2011 ; 11 : 2110-2.
38. Hinault C, Dumortier O, Van Obberghen E. MicroARN et diabète : petites structures, grands effets. *Med Sci (Paris)* 2013 ; 29 : 785-90.
39. Bournet B, Dufresne M, Salvat G. MicroRNAs and pancreatic cancer: the next step. *Ann N Y Acad Sci* 2013 ; 1291 : 991-7.

TIRÉS À PART
S. Baulande



Tarifs d'abonnement 2014

Abonnez-vous

à médecine/sciences

>Grâce à/s, vivez en direct les progrès des sciences biologiques et médicales

Bulletin d'abonnement

page 334 dans ce numéro de

